matter[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2005, 172(12): 1534 – 1540.
[12] 肖纯凌, 李舒音, 尚德志, 等. PM2.5 大气污染物致大鼠呼吸系统病理学变化[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(12): 1759 – 1761.
[13] Brook RD, Franklin B, Cascio W, et al. Air pollution and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association [J]. Circulation, 2004, 109(21): 2655 – 2671.
[14] 闫庆倩, 赵学彬, 杨莉, 等. 不同地区大气 PM2.5 致大鼠肺损伤的比较实验研究[J]. 环境与健康杂志, 2012. 29(01): 7 – 11, 97.
[15] Hatzis C, Godleski JJ, Gonzalez-Flecha B, et al. Ambient particulate matter exhibits direct inhibitory effects on oxidative stress enzymes[J]. Environ Sci Technol, 2006, 40(8): 2805 – 2811.
[16] 李娟, 杨维超, 洪丽娟, 等. PM2.5 对 BEAS-2B 细胞脂质过氧化损伤作用[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(11): 1389 – 1391.
[17] Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ, et al. American Heart Association Nutrition Committee. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new recommendations from the American Heart Association[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(2): 151 – 152.
[18] Cosar M, Songur A, Sahin O, et al. The neuroprotective effect of fish n-3 fatty acids in the hippocampus of diabetic rats[J]. Nutr Neurosci, 2008, 11(4): 161 – 166.
[19] Ozen OA, Cosar M, Sahin O, et al. The protective effect of fish n-3 fatty acids on cerebral ischemia in rat prefrontal cortex[J]. Neurol Sci, 2008, 29(3): 147 – 152.

收稿日期: 2014 – 11 – 17 （解学魁编辑 吴少慧校对）

· 实验研究 ·

眼针疗法改善视网膜分支静脉阻塞兔微循环实验研究*

徐辉[1,2], 何伟[1], 王鹏琴[2], 孙静[3]

摘 要: 目的 观察眼针治疗视网膜分支静脉阻塞(BRVO)兔微循环的变化并分析机理。**方法** 光化学法造模 BRVO 兔, 予眼针、中药、眼针 + 中药治疗, 连续 14 d, 激光散斑成像(LSI)技术测量靶血管直径及单位面积血流量, 病理切片并检测二磷酸腺苷(ADP)聚集率。**结果** 眼底血管直径模型组、中药组、眼针组、眼针 + 中药组分别为(0.133 ± 0.007)、(0.105 ± 0.008)、(0.111 ± 0.005)、(0.102 ± 0.004) mm, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 单位面积血流量 4 组分别为(221 ± 33.6)、(401 ± 44.6)、(365 ± 55.1)、(489 ± 46.7) PU, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 眼针 + 中药组较其它治疗组差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); ADP 聚集率 4 组分别为(59.72 ± 8.36)%、(46.17 ± 5.84)%、(42.38 ± 4.16)%、(42.01 ± 6.09)%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 眼针可改善 BRVO 兔微循环, 联合中药效果更佳。

关键词: 眼针; 视网膜分支静脉阻塞(BRVO); 激光散斑成像
中图分类号: R **文献标志码**: A **文章编号**: 1001-0580(2015)06-0770-04 DOI: 10.11847/zgggws2015-31-06-22

Therapeutic effect of eye acupuncture on branch retinal vein occlusion in rabbits

XU Hui*, HE Wei, WANG Peng-qin, et al(*Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning Province* 110032, China)

Abstract: Objective To study therapeutic effect of eye acupuncture treatment on branch retinal vein occlusion (BRVO) and its mechanism in rabbits. **Methods** Photochemical method was used to establish BRVO model in rabbits. Fifty rabbits were randomly divided equally into a healthy control group, a model group, eye acupuncture group, traditional Chinese medicine group, and the eye acupuncture combined with traditional Chinese medicine group and the rabbits were treated differently for 14 consecutive days. Laser speckle imaging (LSI) was adopted to measure the diameter of target blood vessels and the blood flow of tissue; pathology and detection of adenosine diphosphate (ADP)-induced platelet aggregation rate were determined. **Results** The average retinal vessel diameter (mm) for model, Chinese medicine, acupuncture, and acupuncture plus traditional Chinese medicine group were 0.133 ± 0.007, 0.105 ± 0.008, 0.105 ± 0.008, and 0.102 ± 0.002, respectively, with a statistically significant difference among the groups ($P < 0.01$); the blood flow per unit area (PU) of four groups were 221 ± 33.6, 401 ± 44.6, 365 ± 55.1, and 489 ± 46.7, respectively, also with a statistically significant difference among the groups ($P < 0.01$) and significantly higher blood flow was observed in the rabbits with eye acupuncture plus traditional Chinese medicine group ($P < 0.05$). The ADP-induced platelet aggregation rate the four groups were 59.72 ± 8.36, 46.17 ± 5.84, 42.38 ± 4.16, and 42.01 ± 6.09, with statistically significant difference among

* **基金项目**: 国家中管局全国中医药学术流派传承工作室项目(LPGZS2012 – 09)
作者单位: 1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学附属医院; 3. 沈阳何氏眼科医院
作者简介: 徐辉(1980 –)女, 辽宁沈阳人, 副主任医师, 博士, 研究方向: 中西医结合治疗视网膜疾病。
通讯作者: 何伟, E-mail: hewei0111@163.com
数字出版日期: 2015 – 0 – 0 0: 00
数字出版网址: http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.2015..0.html

the groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Eye acupuncture can improve the microcirculation of BRVO in rabbit, especially combined with traditional Chinese medicine.

Key words: eye acupuncture; branch retinal vein occlusion; laser speckle imaging

视网膜静脉阻塞(retinal vein occlusion, RVO)是临床上常见的、可致盲性眼底病。年发病率为 0.04% ~0.16%。视网膜分支静脉阻塞(branch retinod vein occlusion, BRVO)多见,占 70% ~80%[1]。该病西医无特效治疗方式,中医常用活血化瘀中药改善微循环,但不适合所有类型,且易造成视网膜静脉出血。眼针疗法是治疗中风病的有效方法,可改善脑梗死缺血区的血流,激发脑细胞的功能活动,增加局部脑血流量[2]。有上络于脑、下通脏腑、活血化瘀、通经活络的作用[3]。BRVO 位于眼球内,眼针直接作用于眼周,对于眼部的活血活络、祛瘀生新的作用更加直接,治疗 BRVO 的有效方法。因此,本研究于 2014 年 11 月制作兔 BRVO 模型,观察眼针治疗对比中药血塞通治疗及二者联合治疗微循环改善情况并测二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)最大聚集率及对比病理切片,以检测其疗效。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 *材料* 健康青紫兰雄兔 50 只,4 ~5 月龄,体重(3.0 ±0.2)kg,雄性。动物来源:由中国北方眼科疾病动物平台(辽宁何氏医学院)提供。注射用血塞通(冻干)(黑龙江珍宝岛药业股份有限公司,批号:B20131114a),给药浓度:给药前用生理盐水溶解为 5 mg/mL,以 5 mg/kg 的剂量耳缘静脉注射。

1.2 *方法*

1.2.1 动物分组及模型制备 将 50 只青紫蓝兔随机分为 5 组,每组 10 只兔(选取右眼为实验眼)。A 组:空白组;B 组:模型组;C 组:中药组;D 组:眼针组;E 组:眼针 + 中药组。将 B、C、D、E 组实验兔术前均以 0.2 ml/kg 的剂量肌肉注射速眠新,联合 1 ml/kg剂量肌肉注射戊巴比妥钠进行麻醉,10 g/L 托吡卡胺散瞳。光化学方法[4]建立 BRVO 动物模型。耳缘静脉注射剂量为 3 mg/kg 的 30% 孟加拉红 1 mL,1 min 后,以 550 nm 波长的氩激光照射靶血管 3 min。以裂隙灯显微镜下见到的靶血管内红细胞聚集成小块、血管径变细,血流速度明显减慢为照模成功。

1.2.2 治疗方法 造模后 1 h 开始治疗,C 组给予注射用血塞通 5 mg/kg 耳缘静脉注射,每日 1 次;D 组眼针取穴双眼上焦,肝区,肾区进行治疗。针刺方法:采用 0.25 ×10 mm 毫针,常规消毒,于兔眶外侧 2 mm 处针刺。手法:平刺,进针 8 mm。留针 30 min。每日 1 次;E 组眼针及血塞通联合治疗,每日 1 次。共治疗 14 d。

1.2.3 激光散斑成像技术眼底微循环的观察 将麻醉后的实验兔搁置于发射光波长 785 nm 的激光散斑成像仪托台上,在兔眼上安装动物角膜接触镜矫正实验眼屈光参差,找到阻塞静脉,观查视网膜微循环。采集图像时,进入 MoorFLPI-2 MeasurementV 1.0 软件,设置时间滤波 25 帧/s,采集频率 5 Hz,曝光时间 0.5 s,连续采集时间为 1 min。分析图像时,利用程序自带的分析功能获得血管直径和血流量结果[5]。血流量以流动的红细胞产生的多普勒位移表示,分别在术后 30 min、4 d、7 d、10 d、12 d、14 d 作为节点,监测实验动物眼底血栓部位血管管径及血栓部位血流量的变化。

1.2.4 体外 ADP 聚集率检测 术后 14 d,心脏取血 5 mL 于枸橼酸钠抗凝的抗凝管中,离心后取富含血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)及贫血小板血浆(platelet poor plasma, PPP)。在测定样品方杯中分别加入 300 μL PRP 及 300 μL PPP,用 300 μmol/L浓度 ADP 做诱导剂,按照 LBY - NJ4 型血小板聚集仪的使用方法检测最大聚集率。

1.2.5 取材及标本的制备 术后 14 d,处死实验兔,立即摘取眼球于 4% 的甲醛溶液中固定、取材、修块,保留视盘周围 1 cm 范围内的组织,常规石蜡切片。

1.3 *统计分析* 实验结果所有数据应用 SPSS 14.0 统计软件进行分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并进行单因素方差分析。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 *眼底血管直径变化(表 1)* 实验过程中,模型组血管管径逐渐变粗。与模型组比较,中药组眼底血栓部位的血管直径明显变细,差异有统计学意义($P < 0.01$);眼针组眼底血栓部位的血管直径变化较大,与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),表明眼针治疗眼底分支静脉血栓具有一定的效果;眼针 + 中药组眼底血栓部位的血管直径明显变细,与空白组比较差异无统计学意义($P = 0.858$);与中药组比较差异不明显,与模型组、眼针组比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

表 1　眼底血管直径(mm, $n = 10$)

组别	1 d	4 d	7 d	10 d	12 d	14 d
空白组	0.104 ± 0.007	0.102 ± 0.004	0.103 ± 0.007	0.105 ± 0.005	0.105 ± 0.003	0.101 ± 0.004
模型组	0.126 ± 0.008	0.128 ± 0.007	0.130 ± 0.008	0.129 ± 0.009	0.131 ± 0.005	0.133 ± 0.007
中药组	0.128 ± 0.007	0.126 ± 0.006	0.119 ± 0.005[a]	0.116 ± 0.007[a]	0.110 ± 0.004[a]	0.105 ± 0.008[a]
眼针组	0.127 ± 0.006	0.127 ± 0.004	0.120 ± 0.004[a]	0.121 ± 0.006[a]	0.114 ± 0.008[a]	0.111 ± 0.005[a]
中药 + 眼针组	0.129 ± 0.006	0.120 ± 0.005[abc]	0.113 ± 0.003[abc]	0.103 ± 0.004[abc]	0.104 ± 0.004[abc]	0.102 ± 0.004[ab]

注：与同时间模型组比较，a $P < 0.01$；与同时间眼针组比较，b $P < 0.05$；与同时间中药组比较，c $P < 0.05$。

2.2　眼底阻塞部位血流量(表 2)　模型组血流量明显变小，血栓堵塞比较严重，随着时间的延长，血流量逐渐变小；与模型组比较，中药组眼底血栓部位血流量明显增加，差异有统计学意义($P < 0.01$)；眼针组眼底血栓部位血流量增加，与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)；眼针 + 中药组实验动物眼底血栓部位血量增加，与模型组、中药组比较，眼针组差异均有统计学意义($P < 0.05$)，最接近于空白组水平，血流量基本恢复。

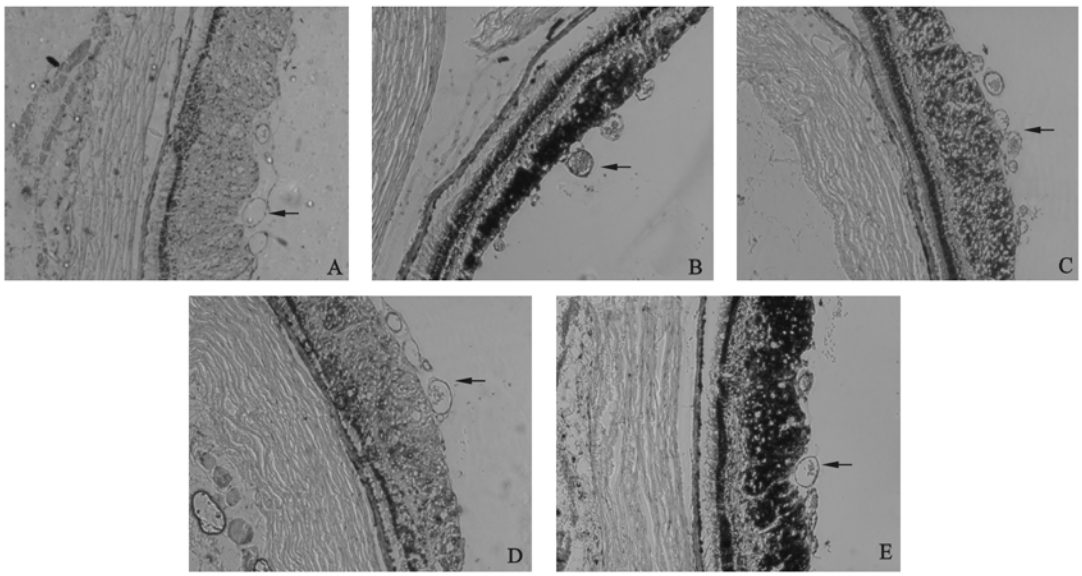
2.3　ADP 最大聚集率　14 d 后，空白组正常最大聚集率(40.90 ± 4.91)%。模型组最大聚集率(59.72 ± 8.36)%，较空白组差异有统计学意义($P < 0.05$)，与模型组比较，中药组[(46.17 ± 5.84)%]、眼针组[(42.38 ± 4.16)%]、眼针 + 中药组[(42.01 ± 6.09)%]最大聚集率均降低，差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)，3 组差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2　眼底血管血流量(PU, $\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	1 d	4 d	7 d	10 d	12 d	14 d
空白组	578 ± 25.1	564 ± 23.4	581 ± 22.1	566 ± 20.1	569 ± 21.3	577 ± 20.9
模型组	244 ± 46.5	232 ± 44.0	231 ± 35.1	228 ± 49.7	226 ± 50.1	221 ± 33.6
中药组	231 ± 48.7	270 ± 43.1	326 ± 37.9[a]	334 ± 48.1[a]	379 ± 51.2[ab]	401 ± 44.6[a]
眼针组	247 ± 44.2	261 ± 45.7	309 ± 33.1[a]	312 ± 44.3[a]	344 ± 42.1[a]	365 ± 55.1[a]
中药 + 眼针组	250 ± 49.1	298 ± 50.1[a]	387 ± 46.1[abc]	456 ± 45.1[abc]	478 ± 44.3[abc]	489 ± 46.7[abc]

注：a 与同时间模型组比较，$P < 0.01$；与同时间眼针组比较，b $P < 0.05$；与同时间中药组比较，c $P < 0.05$。

2.4　病理检查(图 1)　实验动物模型 BRVO 病理切片光镜检测：A 组，正常动物眼底血管，如箭头所示血管内无红细胞聚集血栓形成；B 组，如箭头所示可见明显的红细胞聚集与血管壁粘附紧密，血栓堵塞严重；C 组，如箭头所示血管内可见少量的红细胞聚集，集聚红细胞与血管壁无明显粘连，血栓堵塞较轻；D 组，如箭头所示血管内红细胞聚集较少，血栓堵塞较轻；E 组，如箭头所示血管内少量红细胞聚集，



注：A：空白组，B：模型组，C：中药组，D：眼针组，E：眼针 + 中药组。

图 1　视网膜分支静脉血栓病理切片

血栓明显减轻。结果表明,眼针组和中药组红细胞聚集程度、与血管的粘附程度均优于模型组,眼针 + 中药治疗组红细胞聚集程度及与血管的粘附程度优于眼针组及中药组,效果最佳。

3 讨　论

RVO 中医属血症范畴,血塞通的主要成分为三七总皂苷,可活血化瘀、促进纤溶、改善微循环[6]。是治疗 RVO 的常用药。

兔眼针穴区与人相似[7],眼针取上焦、肝区、肾区的依据为:病位取穴:眼属上焦,故取上焦穴;循经取穴:“目为肝之窍”,且眼与肝经络上直接联系,《灵枢 · 经脉》:“肝足厥阴之脉,…连目系”,取肝区;视衣(视网膜)属瞳神范围[8],五轮学说中属水轮,在脏属肾,又“肝肾同源”,故取肾区。视网膜静脉阻塞中医学病机与中风病相似,多因肝肾阴虚,针刺以上穴区,抑肝阳,滋肾阴,通调脏腑,宁血祛瘀,目得所养则五色可辨。

RVO 的形成与血液流变学的改变的关系密切。降低血小板聚集率是改善血栓的有效方式之一[9]。血塞通有抑制体外 ADP 诱导的兔血小板聚集作用[10],本研究显示,眼针降低血小板最大聚集率的效果与血塞通无明显差异。针灸可通过改善血液流变学多项指标,降低血粘度,改善微循环来调整机体“内结血瘀”的病理状态[11]。针刺眼周穴位,可改善眼周血管舒缩功能,吸收出血、减轻炎症并促进代谢物的传输,使视网膜得以滋养[12]。可以认为眼针改善微循环的机制之一是通过降低血小板聚集率,而达到“祛瘀”的效果。

参考文献

[1] 董志国,张殷建. 中医药防治视网膜静脉阻塞的临床研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2011,20(18):2336 – 2338.

[2] 吴翊馨,张海平,苏胜林. 眼针对大鼠脑缺血再灌注脑血流量及速度影响[J]. 中国公共卫生,2013,29(8):1181 – 1182.

[3] 王鹏琴,鞠庆波,周鸿飞,等. 基于文献临床实验研究探讨眼针疗法的理论基础[J]. 中国中医基础医学杂志,2011,17(10):1133 – 1134.

[4] Wu J, Zhou X, Hu Y, et al. Video microscope recording of the dynamic course of thrombosis and thrombolysis of the retinal vein in rabbits[J]. Retina, 2010, 30: 976 – 980.

[5] 吴建国,郑玉强,徐辉,等. 视网膜静脉阻塞兔眼微循环变化的激光散斑成像技术定量监测[J]. 中华眼底病杂志,2014,5(30):435 – 438.

[6] 李真,王印昌,毛泉报. 中西医结合治疗视网膜静脉阻塞疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志,2012,21(30):3337 – 3338.

[7] 许宏基,陈卫东,张连洪. 家兔和猫眼眶周围躯体感觉神经的追踪[J]. 解剖学杂志,1993,16(4):365 – 367.

[8] 廖品正. 中医眼科学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:101.

[9] 张晓林,张相年,杨安平,等 阿霍烯对兔血小板聚集抑制作用[J]. 中国公共卫生,2010,26(7):872 – 873.

[10] 嵇扬,沈娟,聂渝琼,等. 血塞通注射液对二磷酸腺苷(ADP)诱导血小板聚集的抑制作用[J]. 中华中医药学刊,2008,26(7):1405 – 1406.

[11] 赵凌杰,郭郡浩,蔡辉. 针灸对中风患者微循环及血液流变学的影响[J]. 针刺研究,2003,28(4):299 – 302.

[12] 严兴科,张燕,于璐,等. 针刺对视网膜静脉阻塞家兔模型血浆纤维蛋白原影响的研究[J]. 时针国医国药,2010,21(5):1241 – 1242.

收稿日期:2014-03-24　　(韩仰欢编辑　吴少慧校对)